

JC20 Rec'd PCT/PTO 20 OCT 2005

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Antje Breitenstein et al.

Serial No:

Art Unit:

Filing Date:

Title: METHOD FOR THE DETECTION OF LEGIONELLA-TYPE
BACTERIAPriority Application: Country: Germany; No.: 103 38 123.6; Filing Date: August 15,
2003

PCT Application: No.: PCT/DE2004/001821 Filing Date: August 13, 2004

October 20, 2005

Attorney's Docket No.: PUG201CP

CLAIM OF PRIORITY

Hon. Commissioner of Patents and Trademarks

Box PCT

P.O. Box 1450

Alexandria, VA22313

Sir:

Pursuant to Title 35, United States Code, Section 119 (1952), the undersigned hereby claims the benefit of the filing date of a prior foreign patent application forming a basis of the PCT application viz.:

Country: GERMANY

Application No.: 103 38 123.6

Date of Filing: August 15, 2003

In support of this claim, a certified copy of the aforementioned foreign patent applications is believed to have been submitted by the World Intellectual Property Organization and should have been received by the United States Patent and Trademark Office prior to the expiration of 20, or respectively 30, months from the first priority date of the application.

10/554238

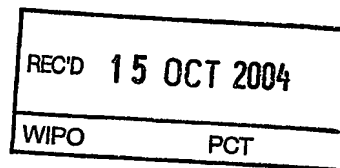
JC20 Rec'd PCT/PTO 20 OCT 2009

Respectfully submitted,
Antje Breitenstein et al.

By: Horst M. Kasper
Horst M. Kasper, their attorney,
13 Forest Drive, Warren, N.J. 07059
Tel.: (908) 757-2839 Fax: (908) 668-5262
Reg. No. 28559; Docket No.: PUG201

*%ptn:pctnat:2(PUG201R1(October 20, 2005(am

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

103 38 123.6

Anmeldetag:

15. August 2003

Anmelder/Inhaber:

Scanbec GmbH, 06120 Halle/DE

Erstanmelder: Dr. Antje Breitenstein,
06114 Halle/DE

Bezeichnung:

Verfahren zum Nachweis von Bakterien
der Gattung Legionella

IPC:

C 12 Q 1/68

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 24. September 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Dzierzon



DAB-P1-DE

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft Verfahren zum Nachweis von Bakterien der Gattung Legionella mittels der Sandwich-Hybridisierungs-Methode bei Temperaturen von 50-55°C.

Erfindungsgemäß werden für das Nachweisverfahren neu entwickelte Oligonukleotide als Fänger- und Nachweissonden eingesetzt, deren Sequenzen den Nachweis der Bakterien der Gattung Legionella gattungs-oder artspezifisch ermöglichen.

Vorteilhaft ist die gegenseitige Austauschbarkeit der Fänger- und Nachweissonden bei art- und gattungsspezifischen Nachweisen von Legionella-Spezies. Außerdem ist das Nachweisverfahren mit Kombinationen von Oligonukleotiden für gattungsspezifische Sonden und Oligonukleotiden für artspezifische Sonden durchführbar.

Verfahren zum Nachweis von Bakterien der Gattung Legionella

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Bakterien der Gattung Legionella mittels der Sandwich-Hybridisierungs-Methode.

Legionella spp. sind gram-negative, stäbchenförmige und fakultativ intrazelluläre Pathogene. Es werden mehr als 42 Spezies mit 64 Sero-Gruppen unterschieden. u

Sie werden als intrazelluläre Parasiten von Amöben und Ciliaten normalerweise in wässriger Umgebung sowie in nassem Boden gefunden. Sie werden auch in oder an künstlich hergestellten Plätzen oder Produkten wie Kühltürmen, klinischen Beatmungs-Geräten, Whirlpools oder Duschen gefunden.

Der Mensch infiziert sich mit Legionellen nach dem Einatmen kontaminierter Aerosol-Tropfen aus den oben erwähnten Habitaten. In der Lunge befallen die Legionella-Bakterien Makrophagen und können eine Form der Lungenentzündung verursachen, bekannt als Legionärs-Krankheit. Die Symptome beginnen mit schwachem Husten, Unwohlsein, Muskelschmerzen, leichtem Fieber, sowie gastrointestinalen Störungen und steigern sich zu hohem Fieber, Alveolitis und Bronchitis. Legionella pneumophila ist der wichtigste Erreger für die Legionellose, aber auch andere Spezies der Gattung L. kommen als Krankheitserreger beim Menschen in Frage.

Zum Nachweis der Legionella-Spezies in Wasserproben sind aus der Literatur die Kultivierungsmethode, auf Polymerase-Kettenreaktionen beruhende Methoden sowie die Verwendung monoklonaler Antikörper bekannt. Angewendet wird auch die Hybridisierung mit fluoreszenzmarkierten Sonden.

Weiter wurde aus der US 5.569. 568 A die Anwendung der Sandwich-Hybridisierungsmethode bekannt. Diese Methode basiert auf der Nutzung von zwei Oligonukleotid-Sonden – einer Fänger-Sonde und einer Nachweis-Sonde. Die Fänger-Sonde ist kovalent an einen festen Untergrund gebunden. Zunächst hybridisiert die zu untersuchende Ziel-Nukleinsäure bei spezifischen Temperaturen mit den beiden Sonden. Danach bindet die Ziel-Nukleinsäure und der Sondenkomplex an den festen Untergrund der Fänger-Sonde. Der Nachweis kann mit Fluoreszenz oder Chemilumineszenz, Farbreaktionen oder radioaktiven Markierungen erfolgen. Wichtig für den Erfolg dieser Methode sind die Eigenschaften der

Sonden für die jeweilige spezifische Hybridisierung. Das wird durch den bisherigen Stand der Technik nur teilweise gewährleistet.

Die Aufgabe der Erfindung besteht deshalb darin, neue gattungs- und artspezifische Oligonukleotide zum Nachweis von Bakterien der Gattung Legionella herzustellen und zu verwenden.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß

- a) zum Nachweis der gesamten Gattung Legionella als Fängersonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'- CCTCCTCCCCACTGAAAGT-3' und als Nachweissonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'- CACTGTATGTCAAGGGTAGG ;
- b) zum Nachweis von Legionella pneumophila als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'- ATCTGACCGTCCCAGGTT-3' und als Nachweissonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'- TTCGCCGCCCTCTGTATCG-3' ;
- c) zum Nachweis von Legionella feelei als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'-GCGCCACTAACCTCATTTCAT-3' und als Nachweissonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'-TATACAACCACCTACGCACC-3' und
- d) zum Nachweis von Legionella jordanis als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'-CCACTCCTCCCCACTGAAAG-3' und als Nachweis-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'-CTTACGGTCCCCAGCTTTTT-3' verwendet werden und die Hybridisierung bei Temperaturen von fünfzig bis fünfundfünfzig Grad Celsius erfolgt.

Die wichtigsten Daten der neuen Oligonukleotid-Sonden sind in nachfolgender Tabelle 1 dargestellt.

Name der Sonde	Sequenz	Ziel-Spezies	Position in E.coli 16SrRNA	Sonde in der Sandwich-Hybridisierung	Spezifische Hybridisierungsrungs-Temp.
legpneu 1	5'-TTCGCCGCCCTCTGTATCG-3'	L.	575-594	Nachweis	50°C
legpneu 2	5'-ATCTGACCGTCCCAGGTT-3'	pneumophila	626-643	Fänger	

legfeel 1	5'-GCGCCACTAACCTCATTTCAT-3'	L.	840-859	Fänger	55°C
legfeel 2	5'-TATACAACCACCTACGCACC-3'	feelei	575-594	Nachweis	
legjor 1	5'-CTTACGGTCCCCAGCTTTTT-3'	L.	192-211	Nachweis	55°C
legjor 2	5'-CCACTCCTCCCCACTGAAAG-3'	jordanis	435-454	Fänger	
legall 11	5'-CCTCCTCCCCACTGAAAGT-3'	Genus	433-451	Fänger	
legall 22	5'-CACTGTATGTCAAGGGTAGG	legionella	983-1001	Nachweis	50°C

Bei artspezifischen Nachweisen von Legionella-Spezies sind gemäß Patentanspruch 2 die Oligonukleotide für Fänger-Sonden und Nachweis-Sonden gegeneinander austauschbar.

Weiterhin werden die Nachweise von Bakterien der Gattung Legionella gemäß Patentanspruch 3 mit Kombinationen von Oligonukleotiden für gattungsspezifische Sonden und Oligonukleotiden für artspezifische Sonden vorgenommen.

Von Vorteil ist weiter, daß die neuen gattungs- und artspezifischen Oligonukleotid-Sonden alle für eine Hybridisierung bei Temperaturen von 50–55°C entwickelt wurden. Damit sind Kombinationen von mehr als 2 Sonden möglich, welche die Voraussetzung für den Nachweis von mehr als 1 Legionella-Spezies in einem Test sind. Hierzu werden magnetische Beads mit verschiedenen zum Nachweis von einzelnen Legionella-Spezies Fänger-Sonden gemischt (Multiplex-Analyse) beispielsweise Fänger-Sonden zum Nachweis von L. p. mit Fänger-Sonden zum Nachweis von L. f. oder anderen in Kombination mit einer gattungsspezifischen Nachweis-Sonde.

Das erfindungsgemäße Verfahren wird im folgenden unter Hinweis auf die beigelegte Zeichnung näher erläutert.

Figur 1, S. 8 zeigt eine schematische Darstellung der Sandwich-Hybridisierungs-Methode.

Dabei ist die Fänger-Sonde 1 mit Biotin 4 markiert; bindet an mit Streptavidin 5 ummantelte magnetische Kugeln (magnetic beads) 7. Nach erfolgter Hybridisierung der Ziel-Nukleinsäure mit den beiden Sonden 1 und 2 geschieht der Nachweis mit Alkalischer Phosphatase 6 die an die Digoxigenin-

markierte Nachweis-Sonde 2 über Anti DIG Fab Fragmente bindet. Der Nachweis des amplifizierten Fluoreszenz Signals kann durch ein Fluoreszenz-Lesegerät quantifiziert werden.

Eine weitere Nachweismöglichkeit ist die Erfassung der Aktivität der Alkalischen Phosphatase durch elektrochemische Sensoren.

Zur Probenaufbereitung werden Gesamt-DNA-Proben verschiedener Legionella-Spezies verwendet. Die 16S ribosomale DNA (rDNA) wurde aus der Gesamt-DNA verschiedener Legionella-Spezies unter Verwendung der fD1 und rP2-Universal-Primer für die 16SrDNA mittels PCR amplifiziert. Der Promoter-Bereich der T7 Polymerase war im fD1 enthalten. In vitro transkribierte 16S r RNA wurde von den entsprechenden PCR Produkten aus Legionella (16S rDNA) unter Verwendung des DIG RNA LabelingKit (SP6/T7) (Roche) oder des MAXIscrip-Kits / Ambion) hergestellt.

Die Wirksamkeit der Oligonukleotid-Sonden wurde durch die Slot-Blot-Methode getestet. In vitro transkribierte 16S rRNA (Ribosomale RNA der kleinen Untereinheit der Bakterien-Ribosomen) wurde als Ziel-Molekül verwendet.

Die Slot-Blot-Hybridisierungen wurden entsprechend des Protokolls des DIG Sytem User's guide for Filter Hybridization, Boehringer Mannheim (1995) durchgeführt. 1000 fmol in vitro transkribierter 16S rRNA verschiedener Legionella-Species wurden in RNA-Lösungs-Puffer (DEPC-H₂O, 20 x SSC, Formaldehyd (5:3:2)) präpariert und für 10 Minuten bei 65°C denaturiert. Anschließend werden die Proben mittels eines Vakuum-Slot-Blotter (Bio-Rad) auf eine positiv geladene Nylon-Membran (Hybond-N) aufgebracht. Diese Membran war vor und nach dem Blotten mit 20 x SSC (3 M NaCl und 300 mM Natriumcitrat pH 7,0) gewaschen worden. Anschließend wurden die Nukleinsäuren mit UV-Licht (für 2 Minuten) an die Membran gebunden.

Die Prä-Hybridisierung wurde in Hoch-SDS-Puffer (7% SDS; 50% Formaldehyd, 5 x SSC, 2% Blocking Reagent (Roche), 50mM Natriumphosphat pH 7,0 und 0,1 % Laurylsarcosin) für 2 Stunden bei Hybridisierungs-Temperatur durchgeführt. Danach erfolgte die Hybridisierung über Nacht in Hoch-SDS-Puffer mit 100 pmol DIG-markierter Oligonukleotid-Sonde bei 50-55°C abhängig von der Schmelztemperatur der Sonde. Die Proben wurden am 3'-Ende mit dem DIG Oligonucleotide 3' End

Labeling Kit (Roche Diagnostics GmbH) entsprechend des Protokolls des Herstellers mit Digoxigenin markiert.

Nach der Hybridisierung wurde die Membran zwei Mal mit 2x SSC; 0,1% SDS für 5 Minuten gewaschen, gefolgt von zweimaligem Waschen mit 0,1 x SSC; 0,1 % SDS, 0,2 x SSC; 0,1 % SDS oder 0,5 x SSC; 0,1 % SDS für 20 Minuten bei Hybridisierungstemperatur, um die ungebundene Sonde zu entfernen. Anschließend wurde die Membran in Maleinsäure-Puffer (0,1 M Maleinsäure und 0,15 M NaCl, pH 7,5) mit 0,3 % Tween 20™ für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, um unspezifische Bindung der Alkalischen Phosphatase zu vermeiden. Die Membran wurde für 30 Minuten in Maleinsäure-Puffer mit 0,1% Blocking Lösung (Roche) inkubiert. Anschließend wurde die Anti-Digoxigenin-Alkalische-Phosphatase (AP) 1 : 20 000 in Maleinsäure-Puffer mit 1% Blocking Lösung verdünnt und die Membran in der Antikörper-Lösung 30 Minuten inkubiert. Die Membran wurde 2 mal mit Maleinsäure-Puffer mit 0,3% Tween 20 für 15 Minuten gewaschen und für 5 Minuten in Nachweis-Puffer (100 mM Tris-HCl, pH 9,5 und 100 mM NaCl) äquilibriert. Das als Substrat für die Alkalische Phosphatase benutzte CDP-Star™ Substrat (Roche) wurde 1: 100 in Nachweis-Puffer verdünnt, auf die Oberfläche der Membran aufgetragen und in Plastik-Folie eingeschweißt für 10 Minuten inkubiert. Die Membran wurde exponiert (Hyperfilm ECL, Amersham Pharmacia Biotech). Zeitraum war zuerst 1 Stunde und später 10 oder 5 Minuten um die Färbung des Hintergrundes zu reduzieren.

Die Ergebnisse der Slot-Blot-Test's zeigen folgendes.

1. Sonden zum Nachweis der Gattung Legionella

Die Sonde Legall 11 hybridisierte mit der in vitro transkribierten 16SrRNA aller untersuchten Legionella Spezies (15 Arten – siehe Tabelle 2, S. 9). Die Bindung war spezifisch für alle Legionella- Spezies.

Die Sonde Legall 22 hybridisierte ebenfalls spezifisch mit der in vitro transkribierten 16SrRNA aller untersuchten Legionella- Spezies.

Beide Sonden sind für einen Nachweis der Gattung Legionella im Sandwich-Hybridisierungsnachweis mit Legall 11 als Fängersonde und Legall 22 als Nachweissonde geeignet. Die Hybridisierungstemperatur war 50°C.

2. Sonden zum Nachweis von Legionella pneumophila

Die Sonde Legpneu1 hybridisierte mit der in vitro transkribierten 16S rRNA der Legionella pneumo-

phila Serogruppe 1 ATCC33152, Legionella pneumophila Serogruppe 6, Legionella pneumophila Philadelphia I JR32 WT und mit Legionella micdadei.

Die Sonde Legpneu 2 hybridisiert mit in vitro transkribierter 16S rRNA von Legionella pneumophila Serogruppe 1 ATCC33152, Legionella pneumophila Serogruppe 6 und Legionella pneumophila Philadelphia I JR32 WT. Diese Sonde ist hochspezifisch und kann als Fänger-Sonde mit der Legpneu1-Sonde in Sandwich-Hybridisierungs-Nachweisen verwendet werden. Die Hybridisierungstemperatur war 50°C.

3. Sonden zum Nachweis von Legionella feelei

Die Sonde Legfeel1 hybridisierte nur mit der in vitro transkribierten 16S rRNA von Legionella feelei und ist spezifisch. Sie kann als Fänger-Sonde zusammen mit Legfeel2 zum Nachweis von Legionella feelei benutzt werden.

Die Sonde Legfeel2 hybridisierte nur mit der in vitro transkribierten 16S rRNA von Legionella feelei und ist spezifisch. Sie kann als Nachweis-Sonde verwendet werden, weil sie eine niedrige Bindungseffizienz besitzt als die Sonde Legfeel1.

Diese beiden Legfeel-Sonden können zum Nachweis von Legionella feelei in Sandwich-Hybridisierungs-Ansätzen verwendet werden. Die spezifische Hybridisierungstemperatur beider Sonden war 55°C.

4. Sonden zum Nachweis von Legionella jordanis

Die Sonde Legjor 2 hybridisierte mit der in vitro transkribierten 16S rRNA von Legionella jordanis und Legionella feelei. Die Bindung mit der Legionella jordanis-Probe war spezifisch und die Bindung mit der Legionella feelei-Probe war unspezifisch. Diese Sonde kann als Nachweis-Sonde zusammen mit der Legjor1-Sonde verwendet werden.

Die Sonde Legjor1 hybridisierte nur mit der in vitro transkribierten 16S rRNA von Legionella jordanis. Die Bindung dieser Sonde zum Zielmolekül war spezifisch. Die Sonde kann als Fänger-Sonde zusammen mit der Sonde Legjor2 verwendet werden. Die Hybridisierungstemperatur für beide Sonden war ebenfalls 55 °C.

Die Vorteile der Erfindung bestehen darin, daß die neuen Oligonukleotide gattungs- und artspezifisch für die Sandwich-Hybridisierungsmethode besonders geeignet sind. Vorteilhaft wirkt sich weiter der Einsatz von Kombinationen der neuen Oligonukleotide aus. Möglich sind auch Kombinationen mit

anderen Oligonukleotid-Sonden z.B. für den Einsatz als Primer für PCR, fluoreszenzmarkiert für mikroskopische Nachweise, zur Fluoreszenzsandwichhybridisierung und zur Sandwich-Hybridisierung mit elektrischer Signalauslesung.

10

-8-

DAB-P1-DE

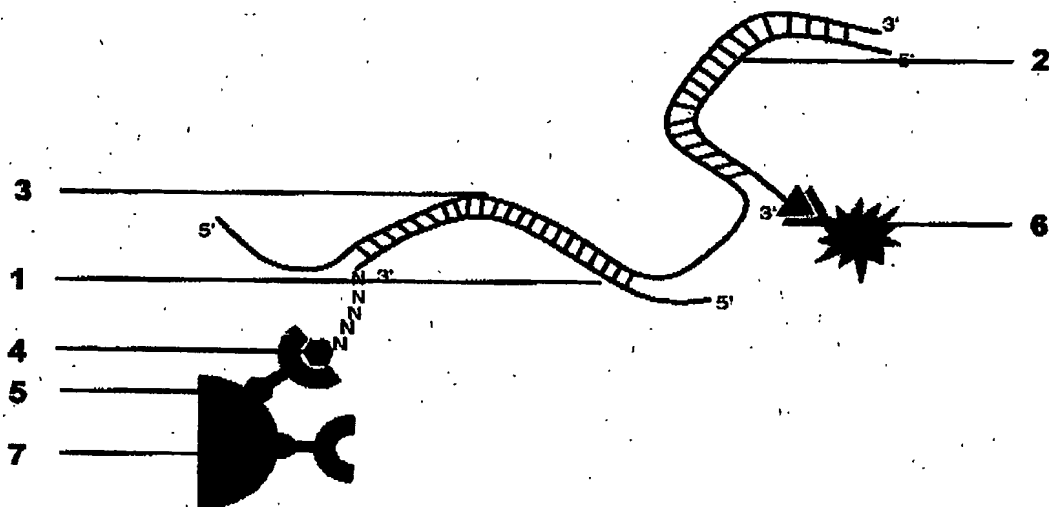


Fig. 1

- 9 -

DAB-P1-DE

Tabelle 2 : Untersuchte Legionella Spezies

Legionella Spezies	SONDEN							
	Legall11	Legall22	Legpneu1	Legpneu2	Legfeel1	Legfeel2	Legjor2	Legjor1
<i>L. bozemanii</i>	0	0						
<i>L. dumoffii</i>	0	0						
<i>L. erythra</i>	0	0						
<i>L. feelei</i>	0	0			0	0	2	
<i>L. gormanii</i>	0	0						
<i>L. hackelliae</i>	0	0						
<i>L. israelensis</i>	0	0						
<i>L. jordanis</i>	0	0					0	0
<i>L. longbeachae</i>	0	0						
<i>L. micdadei</i>	0	0	1					
<i>L. oakridgensis</i>	0	0						
<i>L.p. 1 ATCC 33152</i>	0	0	0	0				
<i>L.p. gorby WT</i>	0	0						
<i>L.p.philadelphia JR32 WT</i>	0	0	0	0				
<i>L.p.philadelphia serogr. 6</i>	0	0	0	0				
Hybridisierungstemp.	50	50	50	50	55	55	55	55
Waschpuffer	A	A	B	B	A	A	A	A

Patentansprüche

1. Verfahren zum Nachweis von Bakterien der Gattung Legionella mittels der Sandwich-Hybridisierungs-Methode dadurch gekennzeichnet, daß
 - a) gattungsspezifisch zum Nachweis der Gattung Legionella als Fängersonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'- CCTCCTCCCCACTGAAAGT-3' und als Nachweissonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'- CACTGTATGTCAAGGGTAGG ;
 - b) artspezifisch zum Nachweis von Legionella pneumophila als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'-ATCTGACCGTCCCAGGTT-3' und als Nachweis-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz 5'-
TTGCGCGCCCTCTGTATCG-3' ;
 - c) artspezifisch zum Nachweis von Legionella feelei als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'-GCGCCA CTAACCTCATTAT-3' und als Nachweis-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'-TATACAACC ACCTACGCACC-3' und
 - d) artspezifisch zum Nachweis von Legionella jordanis als Fänger-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'-CCACTCCTCCCCACTGAAAG-3' und als Nachweis-Sonde ein Oligonukleotid der Sequenz
5'-CTTACGGTCCCCAGCTTTTT-3'verwendet werden und die Hybridisierung bei Temperaturen von 50 bis 55°C erfolgt.
2. Verfahren gemäß Patentanspruch 1., gekennzeichnet dadurch, daß bei artspezifischen Nachweisen von Legionella-Spezies die Oligonukleotide für die Fänger-Sonden und Nachweis-Sonden gegeneinander austauschbar sind.
3. Verfahren gemäß Patentanspruch 1., dadurch gekennzeichnet, daß die Nachweise mit Kombinationen von Oligonukleotiden für gattungsspezifische Sonden und Oligonukleotiden für artspezifische Sonden vorgenommen werden.

10

-10-

DAB-P1-DE

Sequenzprotokoll

Allgemeine Angaben:

Anmelder:

Name: Antje Breitenstein
Strasse: Schillerstr. 29
Ort: Halle/S.
Land: Deutschland
Postleitzahl: 06114
Telefon: 0345-6786730
e-mail: antje.breitenstein@scanbec.com

Bezeichnung der Erfindung: Verfahren zum Nachweis von Bakterien der
Gattung Legionella

Anzahl der Sequenzen: 8

Computerlesbare Fassung:

Datenträger: Diskette
Computer: IBM PC-kompatibel
Betriebssystem: Windows
Software: Microsoft Word

Angaben zu Seq. ID-No. Legpneu 1:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 19 Basenpaare
Art: DNA-Oligonukleotid
Strangform: Einzelstrang
Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella pneumophila
Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 575...594

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. Legpneu 1: TTCGCCGCCCTCTGTATCG

Angaben zu Seq. ID-No. legpneu 2:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 18 Basenpaare
Art: DNA-Oligonukleotid
Strangform: Einzelstrang
Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella pneumophila
Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 626....643

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legpneu 2: ATCTGACCGTCCCAGGTT

Angaben zu Seq. ID-No. legfeel 1:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 20 Basenpaare
Art: DNA-Oligonukleotid
Strangform: Einzelstrang
Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella feeel
Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 840....859

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legfeel 1: GCGCCACTAACCTCATT CAT

Angaben zu Seq. ID-No. legfeel 2:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 20 Basenpaare
Art: DNA-Oligonukleotid

-12-

DAB-P1-DE

Strangform: Einzelstrang
Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella feelei

Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA

Lage: 575...594

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legfeel 2: TATACAACCACCTACGCACC

Angaben zu Seq. ID-No. legjor 1:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 20 Basenpaare

Art: DNA-Oligonukleotid

Strangform: Einzelstrang

Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella jordanis

Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA

Lage: 192....211

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legjor 1: CTTACGGTCCCCAGCTTTT

Angaben zu Seq. ID-No. legjor 2:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 20 Basenpaare

Art: DNA-Oligonukleotid

Strangform: Einzelstrang

Topologie: linear

Hypothetisch: nein

-13-

DAB-P1-DE

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella jordanis

Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 435....454

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legjor 2: CCACTCCTCCCCACTGAAAG

Angaben zu Seq. ID-No. legall 11:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 19 Basenpaare

Art: DNA-Oligonukleotid

Strangform: Einzelstrang

Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella spp.

Zelltyp: Einzelliger Organismus

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 433....451

Sequenzbeschreibung:

Seq ID-No. legall 1: CCTCCTCCCCACTGAAAGT

Angaben zu Seq. ID-No. legall 22:

Sequenzcharakteristika:

Länge: 20 Basenpaare

Art: DNA-Oligonukleotid

Strangform: Einzelstrang

Topologie: linear

Hypothetisch: nein

Anti-Sense: ja

Ursprüngliche Herkunft:

Organismus: Legionella spp.

Zelltyp: Einzelliger Organismus

HJ

-14-

DAB-P1-DE

Merkmal: synthetisches Oligonukleotid gegen 16S rRNA
Lage: 983....1001

Sequenzbeschreibung:
Seq ID-No, legal 22: CACTGTATGTCAAGGGTAGG